

München. 1960

**Verhalten der Succinooxydase
in Lunge, Herz und Gehirn
von Ratten
nach Tetrachlorkohlenstoff-Vergiftung**

Hannelore Warnebold

AUS DER
MEDIZINISCHEN POLIKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN
Direktor : Professor Dr. W. Seitz

**Verhalten der Succinooxydase
in Lunge, Herz und Gehirn
von Ratten
nach Tetrachlorkohlenstoff-Vergiftung**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Hannelore Warnebold
aus Göttingen

München 1960

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent;	Privat-Dozent Dr. N. ZÖLLNER
Correferent;	Professor Dr. W. SEITZ
Dekan;	Professor Dr. H. SCHWIEGK

Tag der mündlichen Prüfung: 10.5.1960



MEINEN LIEBEN ELTERN GEWIDMET

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
Einleitung	7
Methodik	11
Verarbeitung der Lunge	12
Verarbeitung des Herzens	13
Verarbeitung des Gehirns	13
Bestimmungen an der Lunge	14
Bestimmungen am Herzen	19
Bestimmungen am Gehirn	21
Subcutane Verabreichung von Tetrachlorkohlenstoff	23
Besprechung der Ergebnisse	24
Zusammenfassung	25
Literaturangabe	27



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555220_0058

EINLEITUNG

Tetrachlorkohlenstoff (CCl_4) ist ein Zellgift. Es ist bekannt, dass leichte Tetrachlorkohlenstoff-Vergiftungen beim Menschen Rauschzustände hervorrufen. Nach schweren Vergiftungen, bei denen das Gift getrunken oder inhaliert wurde, trat der Tod gewöhnlich nach einigen Tagen ein (1, 8, 11, 17).

Klinisch steht bei der Tetrachlorkohlenstoff-Vergiftung vor allem die schwere toxische Leberschädigung und eine toxische Nierenschädigung im Vordergrund.

Bei Patienten, die Tetrachlorkohlenstoff oral aufnahmen, trat schon nach etwa 30 Stunden ein Ikterus und eine starke Lebervergrößerung verbunden mit deutlicher Druckschmerzhaftigkeit des Organs auf.

Von Seiten der Niere stellen sich in der Regel eine Oligurie, manchmal eine Anurie ein, die dann meist therapierefraktär ist. Das Endstadium ist gekennzeichnet durch das Ansteigen harnpflichtiger Substanzen im Serum, also einer Urämie, oft verbunden mit einer Anämie. Durch die Niereninsuffizienz und das Leberversagen kommt es zu einer allmählich zunehmenden Trübung des Sensoriums. Der Tod tritt meist im Coma uraemicum ein (7).

Pathologisch - anatomisch findet sich bei der Tetrachlorkohlenstoff-Vergiftung eine grosstropfige Verfettung der Leber mit ausgedehnten zentralen Läppchennekrosen. Neben einer schweren allgemeinen Anämie kann ein erheblicher Ikterus bestehen. Subconjunctival und subpleural wurden Blutungen beobachtet. Gelegentlich findet sich eine Hämosiderose der Leber, der Milz und des Knochenmarkes (7). Die Nieren sind makroskopisch blass, rot-braun und gefleckt. An den Lungen werden blutige Ödeme, verschieden grosse, schlecht abgegrenzte Infiltrationen, herdförmige Carnifikationen und interlobuläre Blutungen beobachtet (7, 3, 4, 17).

Aus Sektionsprotokollen geht hervor, dass die Vergiftung an verschiedenen Organen die oben beschriebenen makroskopischen Veränderungen bewirken kann. Diese Beobachtungen werden histologisch bestätigt und ergänzt.

Die Nieren zeigen schwere nephrotische Veränderungen, wobei in erster Linie die distalen Anteile des Nephrons beteiligt sind. In den Tubuli sind häufig kristalline Eiweissausfällungen, Hämoglobin- und Erythrocytenzylinder zu beobachten. Haemolysenieren wurden beschrieben (7, 11).

In der Leber werden in den zentralen Läppchennekrosen Leukocytenansammlungen deutlich. Die peripheren Läppchenabschnitte weisen eine grosstropfige Verfettung auf (1, 7, 3).

In den Lungen werden eitrige Bronchopneumonien, lobäre Pneumonien, Proliferationen der Alveolarwandepithelien und fibrinöse Ausgüsse der Alveolen mit Reichtum an eosinophilen Zellen beschrieben (9, 17).

Die Lungenveränderungen werden einmal mit der meist bestehenden Urämie auf Grund der schweren Nierenschädigung in Zusammenhang gebracht, zum anderen werden sie als Folge der Abatmung des Giftes betrachtet (17).

In den Herzmuskelfasern treten fettfreie Vacuolen auf, die als Zeichen des akuten Sauerstoffmangels anzusehen sind. Auch Myocardnekrosen sind nach Tetrachlorkohlenstoff-Vergiftungen beobachtet worden (3, 14).

In den Nebennieren kann es zu vollständigem Fett- und Lipoidschwund in den inneren Bezirken der Rinde und zu fleckförmigen Veränderungen in den äusseren Teilen der Rinde kommen (7).

Im Gehirn sind teilweise Ödeme zu finden. In der Kleinhirnrinde sind keine Ganglienzellnekrosen nachweisbar (1, 7).

Zu bemerken ist, dass die Tetrachlorkohlenstoff-Vergiftung bei Alkoholikern sich sehr viel stärker auswirkt als bei anderen Personen.

Im Tierexperiment ist die Schädigung, die Tetrachlorkohlenstoff-Vergiftungen in der Leber hervorrufen, sowohl chemisch als auch histologisch ausgiebig untersucht worden (5). Es sind zahlreiche Untersuchungen über Art und Ablauf der Leberschädigung angestellt worden. Die klassische, histologische Beschreibung des Ablaufs einer Tetrachlorkohlenstoff-Vergiftung in der Leber stammt von H. P. Himsworth (6). Ausser der histologischen Untersuchung sind auch verschiedene Enzyme untersucht worden. An Citronensäuredehydrase, alkal. Phosphatase und Katalase konnten keine bemerkenswerten Befunde erhoben werden (18).

Zöllner und Raisich (20) haben sowohl die histologischen Veränderungen als auch das Verhalten des Succinat-oxydierenden-Systems beschrieben. Sie fanden, dass das Succinoxydasesystem sehr früh einen Abfall in der Aktivität zeigt. Die Autoren legten im übrigen besonderen Wert auf eine einmalige Vergiftung.

Andere Autoren haben mehrmals vergiftet, das Gift oral (15) gegeben, per inhalationem, intraarteriell oder haben subcutan gespritzt.

Nach Vergiftungen von Mäusen und Ratten mit Tetrachlorkohlenstoff, der in Olivenöl gelöst und subcutan injiziert wurde, trat ebenfalls eine Verminderung der Aktivität der Bernsteinsäuredehydrase und der Succinoxydase auf und zwar grob proportional der Dosis des zugeführten Giftes (19, 21). Ähnliche Ergebnisse sind von Tsuboi und Stowell nach oraler Zufuhr gefunden worden (16).

Die histologischen Veränderungen im Lebergewebe in verschiedenen Zeitabständen und nach intraperitonealer Injektion von Tetrachlorkohlenstoff (0,04 ml/100 g Tier) sind in der Arbeit von Zöllner und Raisch folgendermassen beschrieben (20, 10):

"Während bis zu einer Zeitdauer von 7 Stunden nach der intraperitonealen Injektion von Tetrachlorkohlenstoff noch keine sicheren morphologischen Veränderungen gegenüber den Kontrolltieren zu verzeichnen sind, werden von der 8. Stunde nach der Giftapplikation an vereinzelt Veränderungen an den um die Centralvene gelegenen Zellen beobachtet. Die Kerne einiger dieser Zellen sind pyknotisch geworden, während das Plasma Veränderungen im Sinne einer körnigen Entmischung zeigt. Die Peripherie der einzelnen Leberläppchen erscheint im H.E.-Bild unverändert.

Etwa 13 Stunden nach der intraperitonealen Tetrachlorkohlenstoff-Injektion scheinen die eben beschriebenen Veränderungen fortgeschritten zu sein. In den zentralen Läppchenabschnitten werden weit mehr Kernpyknosen beobachtet. An einigen Zellen sind Veränderungen im Sinne einer Karyorhexis und einer Chromatolyse zu beobachten. Im Plasma treten unscharf begrenzte Aufhellungen oder scharf begrenzte Vacuolen in unmittelbarer Nähe des Zellkerns auf. Die Läppchenperipherie scheint weiterhin unverändert zu sein. Sudanschnitte zeigen, dass es bis zu dieser Zeit zu keiner stärkeren Fettablagerung gekommen ist.

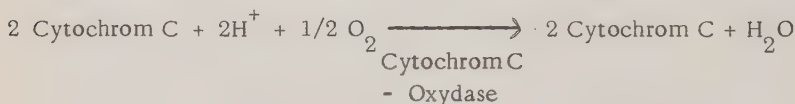
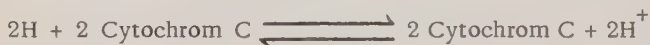
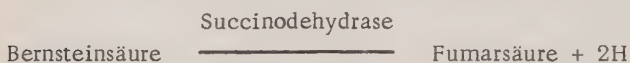
Nach 17 - 24 Stunden ist dann das typische Bild der Leberzellschädigung durch Tetrachlorkohlenstoff ausgebildet. Die Veränderungen spielen sich am Leberläppchen (Lobulus) ab. In den zentralen Lobulusabschnitten um die Zentralvenen herum treten Zellnekrosen auf. Die Intermediärzone ist erfüllt von zahlreichen ballonartig aufgetriebenen Zellen, deren Protoplasma sich fadenartig umgebildet hat und in dieser Form das Zellinnere zwischen pyknotisch verändertem Kern und Zellwand ausfüllt. Die Peripherie der Läppchen zeigt keine morphologischen Veränderungen. Ausserdem zeigen Sudanschnitte eine erhebliche Fettablagerung in der zentralen Zellnekrosenzone gegenüber den normalen Kontroll-Lebern."

Ausser an der Leber sind systematische, tierexperimentelle Untersuchungen bisher nur an der Niere vorgenommen worden. Dabei wurde vor allem der histologische Ablauf beobachtet. Es sind Veränderungen im Sinne einer toxischen Nephrose gefunden worden (12).

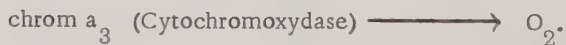
Biochemische Untersuchungen an anderen Organen als der Leber sind relativ selten. Untersuchungen speziell über die Succinoxidaseaktivität nach Tetrachlorkohlenstoff-Vergiftungen in anderen Organen sind bisher noch nicht beschrieben worden.

Es sollte deshalb in vorliegender Arbeit experimentell die Art der Zellschädigung an der Lunge, am Herzen und am Gehirn festgestellt werden. Es war zu prüfen, ob auch in diesen Organen die Aktivität der Succinooxydase gestört wird.

Zu diesem Zwecke wurde das Succinodehydrase - Cytochrom C - Oxydase-System angewandt. Dabei wird Cytochrom C als Wasserstoffacceptor benutzt. Der durch die Dehydrase aktivierte Wasserstoff der Bernsteinsäure reduziert Cytochrom C. Dabei geht Bernsteinsäure in Fumarsäure über. Durch die Aktivierung des Sauerstoffs seitens der Cytochromoxydase wird das reduzierte Cytochrom C oxydiert. Wasser spaltet sich ab, und Cytochrom C ist wieder zur Aufnahme des Wasserstoffs eines weiteren Moleküls Bernsteinsäure frei.



Der aus der Dehydrierung der Bernsteinsäure stammende Wasserstoff wird erst nach Durchlaufen einer Fermentkette mit Sauerstoff oxydiert. Diese Wasserstoffübertragung sieht etwa folgendermassen aus (in Anlehnung an Slater):



Tetrachlorkohlenstoff kann theoretisch an jeder Stelle dieser Fermentkette die Succinatoxydation hemmen. Unsere Methode ermöglicht uns also keine genaue Lokalisation der enzymatischen Schädigung. Da aber Cytochrom C im Überschuss zugesetzt wird, kann man annehmen, dass Veränderungen der Aktivität auf Veränderungen der Succinatdehydrogenase beruhen.

METHODIK

Für die Versuche wurden männliche, weisse Sprague - Dawley - Ratten von 90 - 130 g Gewicht verwandt. Ihnen wurden 0,04 ml Tetrachlorkohlenstoff (spez. Gew.: 1.598) pro 100 g Körpergewicht intraperitoneal injiziert.

Rattenweibchen eignen sich für die Versuche nicht, da sie alle sechs Wochen trächtig werden können. Es ist unmöglich, über eine etwa vorhandene Trächtigkeit der sezierten, mit Tetrachlorkohlenstoff vergifteten Ratte etwas Genaues auszusagen.

Von den männlichen Tieren eignen sich besonders die Gewichtsklassen von 90 - 130 g. Ratten, die weniger als 90 g wiegen, sind für die Versuche nicht brauchbar, da sie zu empfindlich sind. Sie sterben häufig schon 20 - 30 Min. nach der Giftinjektion.

Das Futter bestand aus einem Getreidekörnergemisch und Wasser. Es wurde darauf geachtet, dass die Tiere nur dieses trockene Futter bekamen.

12 Stunden vor der Tetrachlorkohlenstoff-Injektion wurde den Tieren das Futter, aber nicht das Wasser entzogen. Bei den Versuchen, in denen der Zeitraum zwischen Giftapplikation und Töten sich über mehrere Tage erstreckte, bekamen die Tiere 24 Stunden nach der Injektion wieder Futter.

Die Tetrachlorkohlenstoff-Injektion wurde mit einer Tuberkulin-Spritze vorgenommen.

Die Spritztechnik ist folgende:

Auf einer Apothekerwaage wird das genaue Gewicht der Ratte festgestellt. Man rechnet dann für das jeweilige Gewicht die zu injizierende Giftdosis aus. Die Tiere werden beim Nacken und Schwanz genommen. Man drückt das Kreuz dabei leicht nach hinten durch. Mit dem Kopf nach unten, wobei der Eingeweidesack in die vorderen 2/3 des Abdomens rutscht, wird den Tieren der unverdünnte Tetrachlorkohlenstoff in das hintere Drittel des Abdomens intraperitoneal injiziert. Die Bauchhaut wird dabei mit Zeigefinger und Daumen leicht angehoben und die Kanüle in einem Winkel von ca. 40° mit der Öffnung nach oben eingestochen. Bei dieser Methode ist eine sichere intraperitoneale Injektion möglich. Die Gefahr, dass Eingeweide verletzt werden, ist gering.

Unter denselben Bedingungen wurden die Kontrolltiere mit 0,04 ml physiologischer Kochsalzlösung pro 100 g Tier gespritzt.

Das Spritzen muss sehr langsam vorgenommen werden, um einen peritonealen Schock zu vermeiden. Anfangs wurde Methylenblau zur Kontrolle der Spritztechnik verwandt.

Unmittelbar nach der Giftinjektion führten einige Ratten eigenartige Kreiselbewegungen aus, wobei sie sich um ihre eigene Achse drehten. Dieser Zustand dauerte jedoch nur wenige Minuten. Bei allen Tieren ist nach der Tetrachlorkohlenstoff-Injektion eine beschleunigte Atmung und eine gesteigerte Herzstätigkeit zu beobachten. Die Tiere sind sehr matt und ruhebedürftig. Langsam gehen jedoch diese Erscheinungen zur Norm zurück. Die letale Giftdosis liegt bei 0,8 g pro 100 g Körpergewicht (2). Die Tiere verenden dann in einem Zeitraum von 1/2 bis 2 Stunden nach der Giftinjektion.

Nach Intervallen von 2, 6, 8, 10, 24 Stunden und 3, 5, 6, 7, 8 Tagen wurden die Tiere durch Dekapitation getötet. Dem eröffneten Abdomen wurde zunächst die Leber entnommen und anderweitig verarbeitet.

In einer 1. VERSUCHSREIHE wurde unmittelbar danach die Succinoxydaseaktivität in der Lunge bestimmt.

Zu diesem Zweck wurde die ganze Lunge herausgeschnitten, mit Filterpapier abgetupft, abgewogen, in winzig kleine Stücke zerschnitten, zusammen mit der 9-fachen Menge KCl (Beispiel: 0,9 g Lunge - 8,1 ccm KCl) homogenisiert. Anschliessend wurde das Homogenat durch eine Schicht von 3 Mulläppchen filtriert und in Eis gestellt, um es unter möglichst günstigen Bedingungen zu halten.

Von dieser Verdünnung wurden:

0,5 ccm zusammen mit

0,5 ccm Phosphatpuffer (pH 7,4)

0,5 ccm Aluminiumchlorid + Calciumchlorid (0,0003 m)

0,5 ccm Na-Succinat (0,04 molare Lösung, pH 7,4)

0,5 ccm Cytochrom (1 : 2,75 verdünnt)

in den Kolben der Warburg'schen Apparatur pipettiert. 2 Kolben wurden mit diesem angegebenen Gemisch beschickt, 2 weitere enthielten an Stelle des Na-Succinates die entsprechende Menge aqua destillata. Es sollte damit der Sauerstoffverbrauch, der nicht das Succinoxydasesystem betrifft, eruiert werden.

Sofort nach Einbringung in die Warburg-Apparatur wurde abgelesen. Die Aufbereitung bis zur Ablesung dauerte ca. 20 Minuten. Nach einem Temperatúrausgleich von 5 Minuten wurden die Ergebnisse innerhalb 30 Minuten in 5-minütlichen Abständen abgelesen bei einer Temperatur von 37° Celsius.

Die Lungen einiger vergifteter Tiere zeigten Karnifikationsherde. Diese Stellen wurden bis ins gesunde Gewebe hinein entfernt und nur makroskopisch einwandfreies Lungengewebe verwandt.

In der 2. VERSUCHSREIHE wurde die Succinoxydaseaktivität im Herzen bestimmt.

Die Dosis des applizierten Tetrachlorkohlenstoffs wurde von 0,04 ml auf 0,3 ml pro 100 g Körpergewicht erhöht. Die Tiere waren unmittelbar nach der Injektion benommen oder stark erregt. Diese Zustände konnten durch langsames Spritzen gemildert werden. Dennoch verblieben die Tiere in einem Zustand allgemeiner Apathie, die bis zur Tötung anhält.

Die Aufbereitung war die gleiche wie bei der Lunge mit folgenden kleinen Ergänzungen:

Nach Herausnahme des Herzens aus dem Thorax des Tieres wurde das Herz so aufgeschnitten, dass Vorhof und Kammer der rechten und linken Herzhälfte eröffnet waren und Blut sowie Blutgerinsel durch kräftiges Spülen in klarem, eisgekühltem Wasser entfernt werden konnten. Vor dem Abwiegen wurden Aussen- und eröffnete Innenflächen mit Filterpapier getrocknet. Das zerschnittene Herz wurde mit der 9-fachen Menge KCl versetzt, homogenisiert und filtriert. Einem ccm dieses Filtrates wurden 9 ccm KCl zugefügt und von dieser endgültigen Verdünnung 0,5 ccm Homogenat mit den oben angegebenen Flüssigkeiten in den Kolben pipettiert.

In einer 3. VERSUCHSREIHE wurde die Succinoxydaseaktivität im Gehirn bestimmt.

Dieses wurde dem dekapitierten Kopf folgendermassen entnommen:

Zwischen den beiden Ohren beginnend wurde in der Medianlinie in ventraler Richtung die Haut gespalten und nach beiden Seiten vom Schädel abgezogen. Darauf wurde mit der unteren Branche der Schere in den eröffneten Rückenmarkskanal eingegangen und entlang der Pfeilnaht der Schädelknochen von hinten nach vorne eröffnet. Die knöchernen Schädelhälften wurden zur Seite gebrochen, wobei meistens die pia mater zerriss. Dann wurden die beiden Grosshirnhemisphären nach Durchtrennung des Rückenmarkes am Übergang ins Gehirn dem Schädel entnommen, unter Hinterlassung der weichen Hirnhaut. Das Kleinhirn verblieb auch im Schädel. Die beiden Hemisphären wurden vor dem Wiegen mit Filterpapier von anhaftendem Blut und Blutgerinsel gesäubert. 1 g - diese Menge entsprach bei fast allen Tieren gerade dem Gewicht des Grosshirns - wurde mit der 9-fachen Menge KCl homogenisiert. 0,5 ccm des Filtrates kamen zur Reaktion in den Kolben.

In der Warburg'schen Apparatur wurde also der O_2 -Verbrauch von

0,05 g Lunge

0,005 g Herz

0,05 g Gehirn

gemessen.

I. BESTIMMUNGEN AN DER LUNGE

In Vorversuchen wurde festgestellt, dass bei Bestimmungen der Aktivität im Lungenhomogenat nicht wie bei den Leberversuchen eine Verdünnung des KCl von 1 : 5, sondern von 1 : 10 optimal war.

An den Manometern, deren Kolben mit aqua destillata an Stelle von Na-Succinat beschickt waren, war im Vergleich zu denjenigen, die Na-Succinat enthielten, auch ein zwar geringer, aber kontinuierlicher Abfall zu registrieren. Das im Lungenparenchym enthaltene Blut ist wohl dafür verantwortlich zu machen. Der Sauerstoffverbrauch wurde in diesem Falle aus dem 30-Minutenwert der Differenzkurve beider Kurven errechnet.

Zeit	TB	Diff.	V ₁	h _a	h _k	V ₂	h _a	h _k	V ₃	h _a	h _k	V ₄	h _a	h _k
0	150		150			151			148			153		
5	151	+ 1	145	5	6	146	5	6	148	0	1	152	1	2
10	151	+ 1	138	12	13	138	13	14	148	0	1	150	3	4
15	151	+ 1	131	19	20	132	19	20	147	1	2	149	4	5
20	152	+ 2	124	26	28	125	26	28	146	2	4	149	4	6
25	152	+ 2	118	32	34	121	30	32	144	4	6	148	5	7
30	152	+ 2	113	37	39	116	35	37	142	6	8	147	6	8

$$\underline{K = 1,18 \text{ mm}^3} \quad \underline{K = 1,15 \text{ mm}^3} \quad \underline{K = 0,89 \text{ mm}^3} \quad \underline{K = 0,94 \text{ mm}^3}$$

TB = Temperatur des Thermobarometers

V₁ und V₂ = Ansatz mit Na-Succinat

V₃ und V₄ = Ansatz mit aqua destillata

h_a = abgelesene Höhe

h_k = korrigierte Höhe

Der kontinuierliche Abfall des Flüssigkeitsspiegels im offenen, linken Schenkel des Manometers (V_1 , V_2 , V_3 , V_4) gibt Aufschluss über den Sauerstoffverbrauch im Kolben. Wenn nun das Gasvolumen im Kolben bekannt ist (V_g), das Flüssigkeitsvolumen im Kolben (V_f), die Temperatur während des Vorganges, die ausgetauschte Gasmenge und die Dichte der Flüssigkeit im Manometer, so kann man die verbrauchte Gasmenge errechnen, vorausgesetzt, dass nur ein Gas ausgetauscht wird. Das Prinzip ist also, die Gas- und Flüssigkeitsvolumina konstant zu halten, den Druckabfall oder -anstieg zu messen, wenn nur eine Gasmenge sich ändert.

Die Topfkonstante K wird nach folgender Formel errechnet (13):

$$K = \frac{V_g \cdot \frac{273}{T} + V_f \cdot \alpha}{P_o}$$

V_g = Totalvolumen - Flüssigkeitsvolumen

T = Temperatur des Wasserbades in absoluter Temperatur gemessen
($273^{\circ} + \text{Temp. } ^{\circ}\text{C}$).
 $273^{\circ} + 37^{\circ} = 310^{\circ}$

α = Löslichkeit in der Flüssigkeit im Gasgefäß, ausgedrückt in ml Gas/ml Flüssigkeit, wenn das Gas einen Druck von 1 at hat (760 mm Hg) und die Temperatur T ist.

$$\alpha = 0,024$$

P_o = 760 mm Hg (Normaldruck), ausgedrückt in Einheiten der Manometerflüssigkeit:

$$(P_o - 760) \cdot 13,6 \text{ (spez. Gew. von Quecksilber)} / \text{spez. Gew. der Manometerflüssigkeit} = 10,000$$

V_f = Flüssigkeitsvolumen im Gefäß

$$V_f = 2,7$$

Der zu errechnende Sauerstoffverbrauch ergibt sich aus dem Produkt aus Topfkonstanten und abgelesenem Druckabfall:

$\text{Gasmenge (mm}^3\text{)} = K \cdot \text{Druckabfall (mm)}$

Beispiel:

Das Gasvolumen des 1. Manometers (V_1) betrug $16,023 \text{ mm}^3$.

Das Flüssigkeitsvolumen betrug $2,7 \text{ mm}^3$.

$$\begin{array}{r} 16,023 \\ - 2,7 \\ \hline 13,323 \end{array}$$

$$K = \frac{(13,323 \cdot 0,88) + 0,0648}{10}$$

$$K = \frac{11,7 + 0,0648}{10}$$

$K = 1,18 \text{ mm}^3$

Die Topfkonstante K wird mit jeder korrigierten Höhe (h_k) multipliziert. Dann werden von diesen errechneten Werten bei den Manometern V_1 und V_2 die Mittelwerte für jeden 5-Minutenwert innerhalb der abgelesenen $1\frac{1}{2}$ Stunde bestimmt. Das gleiche bei den Manometern V_3 und V_4 . Die Mittelwerte der Manometer V_3 und V_4 (mit aqua destillata) werden von denen der Manometer V_1 und V_2 (mit Na-Succinat) abgezogen. Diese Werte ergeben die endgültige Differenzkurve.

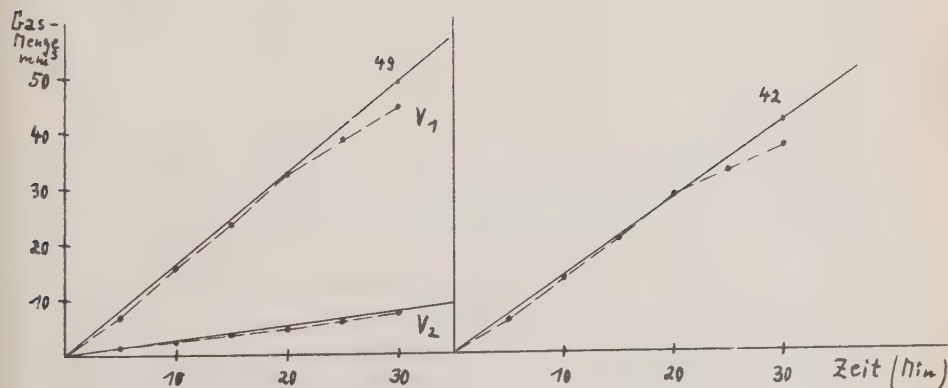
Der O_2 -Verbrauch nach 1 Stunde ergibt sich durch Multiplikation aus dem 30-Minuten-Wert der extrapolierten Differenzkurve.

Zeit	<u>Na-Succinat</u>			<u>aqua destillata</u>		
	<u>V₁</u>	Mittelwerte	<u>V₂</u>	<u>V₃</u>	Mittelwerte	<u>V₄</u>
0	-		-	-		-
5	7,1	7,0	6,9	0,9	1,4	1,9
10	15,3	15,7	16,1	0,9	2,3	3,8
15	23,6	23,3	23,0	1,8	3,2	4,7
20	33,0	32,6	32,2	3,6	4,6	5,6
25	40,2	38,5	36,8	5,3	5,9	6,6
30	46,0	44,3	42,6	7,1	7,3	7,5

Differenz der Mittelwerte:

Zeit	
5	5,6
10	13,4
15	20,1
20	28,0
25	32,6
30	37,0

Differenzkurve:



Die Sauerstoffaufnahme von 0,05 g Lunge beträgt also bei diesem Versuch nach 30 Minuten: 42 mm³, nach 60 Minuten: 84 mm³.

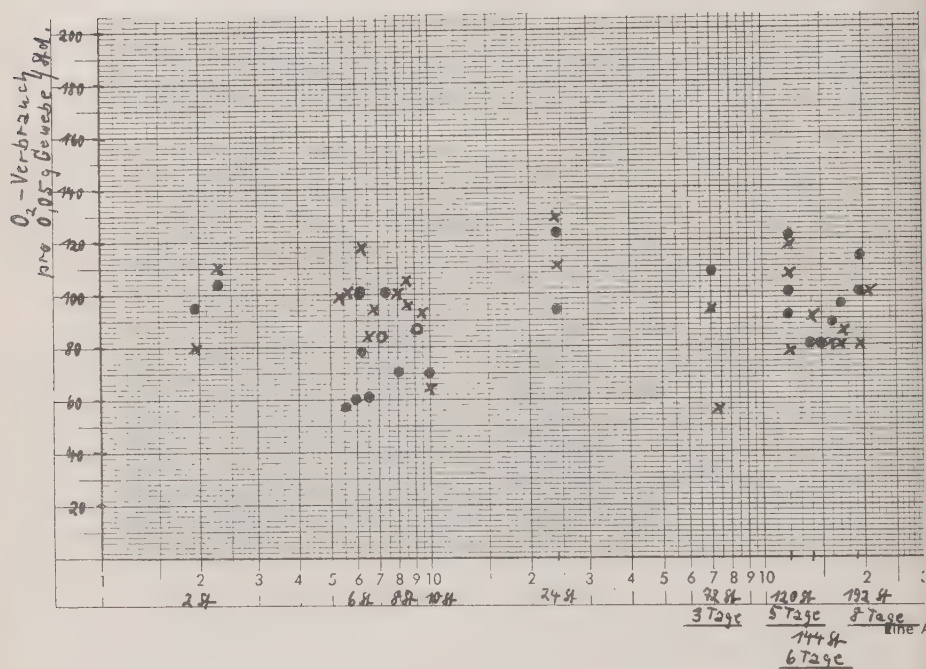


ABBILDUNG I: Lunge

- 0,04 ml CCl₄/100 g Tier
- x Kontrolltiere
- o subcutan/vergiftet

In Abbildung I sind die in der oben beschriebenen Art ermittelten Werte zusammengestellt. Es ist zu ersehen, dass die Kontrollwerte zwischen 80 und 120 mm³ O₂-Verbrauch liegen. Nur 2 Kontrollwerte liegen unterhalb und 1 Kontrollwert liegt oberhalb dieses Bereiches. Bei den vergifteten Tieren ist in der Zeit 6 - 10 Stunden nach der Vergiftung ein Abfall des Sauerstoffverbrauches festzustellen. Die entsprechenden Werte liegen zwischen 60 und 80 mm³. Diese Verminderung ist nicht so ausgeprägt wie bei den entsprechenden Versuchen bei der Leber, und sie hält auch nicht so lange an. 24 Stunden nach der Vergiftung und später liegen die Werte der vergifteten Tiere im gleichen Bereich wie die der Kontrolltiere.

II. BESTIMMUNGEN AM HERZEN

Das Herzgewebe zeigt eine sehr starke Aktivität. Deshalb wurde, wie oben angegeben, das Herzhomogenat stärker verdünnt.

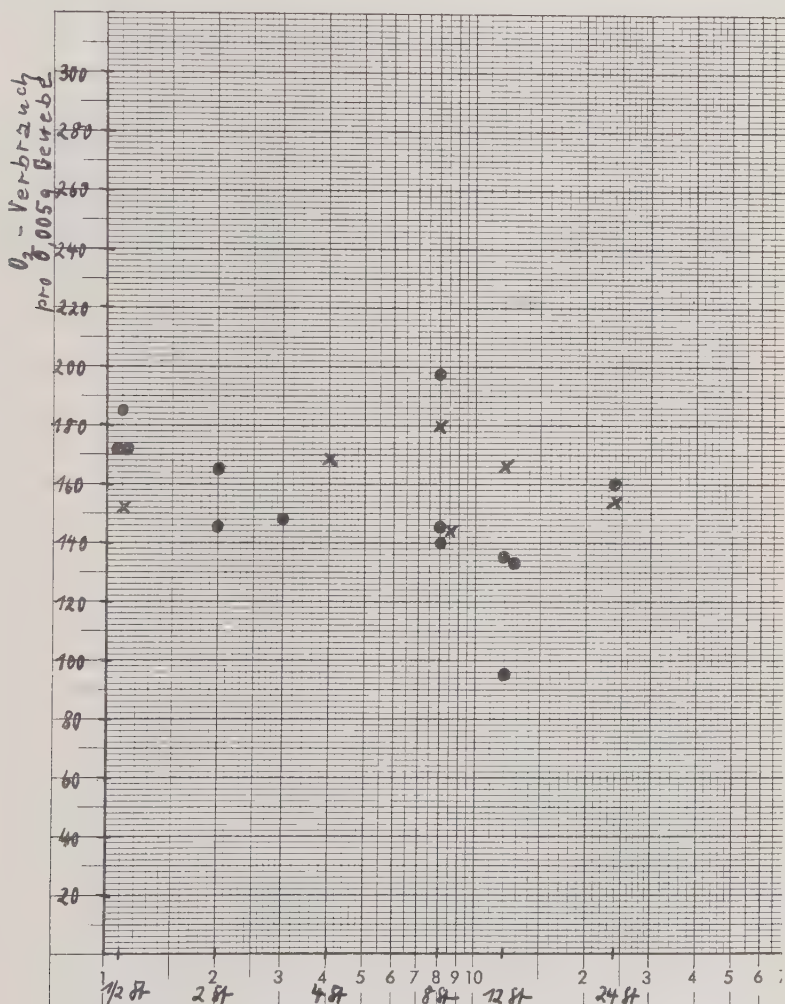


ABBILDUNG II: Herz

● 0,3 ml $CCl_4/100$ g Tier

× Kontrolltiere

Die Aktivität bzw. der O_2 -Verbrauch von Herzgewebe ist etwa 20mal grösser als in der Lunge. Aus diesem Grunde wurde die bereits erwähnte Verdünnung angewandt, so dass in der Abbildung II der O_2 -Verbrauch pro 0,005 g Gewebe aufzutragen war. Ausserdem wurde in dieser Serie die Vergiftungsdosis auf etwa das 8-fache erhöht, da in anderen Untersuchungen an der Niere festzustellen war, dass bei dieser Dosierung die Verminderung im O_2 -Verbrauch deutlicher ausgeprägt war als bei niedriger Dosierung (5).

Die Ergebnisse zeigen, dass bei der erhöhten Dosierung beim Herzen 12 Stunden nach der Vergiftung ein Abfall im O_2 -Verbrauch eintritt. Die entsprechenden Werte liegen ähnlich wie bei der Lunge dicht unter dem Bereich der Kontrollwerte und sind zeitlich noch enger begrenzt als bei der Lunge. Versuche mit einer längeren Vergiftungsdauer als 24 Stunden wurden - wie auch im folgenden beim Gehirn - nicht durchgeführt, weil bei der erhöhten Vergiftungsdosis die meisten Tiere nach 24 Stunden zugrunde gingen.

III. BESTIMMUNGEN AM GEHIRN

Die Versuche am Gehirn ergeben zunächst, dass das Hirngewebe etwa 4mal so aktiv ist wie das Lungengewebe, aber bei weitem nicht an die Aktivität des Herzgewebes heranreicht.

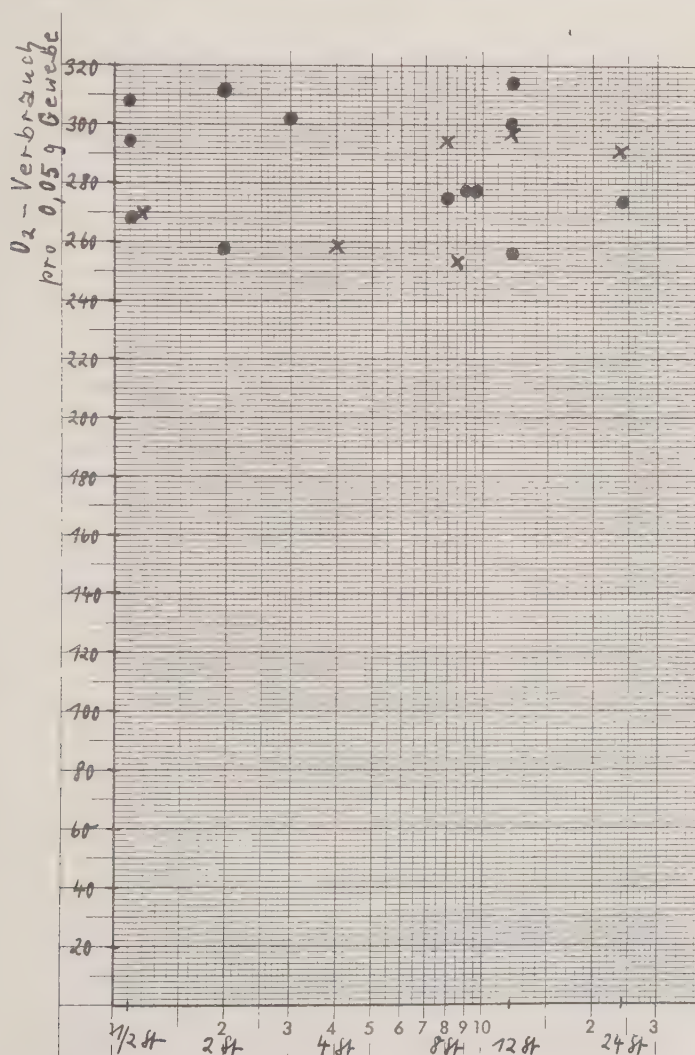


ABBILDUNG III: Gehirn

- 0,3 ml CCl₄/100 g Tier
- × Kontrolltiere

Aus Abbildung III ist zu entnehmen, dass im Gehirngewebe auch bei hoher Dosierung eine Minderung des O_2 -Verbrauches nicht eingetreten ist. Die Werte der vergifteten Tiere liegen im gleichen Bereich wie die der Kontrolltiere.

Um zu klären, ob die Applikationsart einen Einfluss auf die Umgebung hat, wurde bei einigen Tieren der Tetrachlorkohlenstoff subcutan verabreicht. Man kann aus diesen orientierenden Versuchen entnehmen, dass dabei eine Änderung der Aktivität des Enzyms nicht eingetreten ist. Die Dosierung ist mit den anderen Gruppen nicht vergleichbar. Es ist aus dem Ergebnis jedenfalls zu ersehen, dass bei der subcutanen Verabreichung eine stärkere Hemmung als bei der intraperitonealen nicht eintritt.

Organ -----	Kontrolle -----	CCl ₄ ----- 2,1 ccm ³ CCl ₄ + Ol. Oliv. auf 100 g Tier s. c.	CCl ₄ ----- 4,2 ccm ³ CCl ₄ + Ol. Oliv. auf 100 g Tier s. c.
Herz (5 mg)	164 (8 St.) 220 (24 St.) 172 (12 St.)	158 (8 St.)	162 (12 St.) 156 (12 St.) 154 (12 St.) 208 (24 St.)
Gehirn (50 mg)	240 (8 St.) 265 (24 St.) 262 (12 St.)	250 (8 St.)	274 (12 St.) 272 (12 St.) 264 (12 St.) 220 (24 St.)

BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Aus den beschriebenen Ergebnissen geht hervor, dass die einzelnen Organe eine verschiedene Aktivität des succinatoxydierenden Systems aufweisen. Die stärkste Aktivität findet sich im Herzen, die schwächste Aktivität in der Lunge. Die Aktivität im Herzen ist etwa 20mal so hoch wie in der Lunge, 10mal so hoch wie im Gehirn, 4mal so hoch wie in der Leber und etwa 2mal so hoch wie in der Niere.

Ausser diesem Unterschied in der Höhe des Sauerstoffverbrauches pro bestimmter Menge Feuchtgewicht der einzelnen Organe, also der Aktivität des Enzyms der einzelnen Organe, zeigt auch das Ausmass des Tetrachlorkohlenstoff-bedingten Abfalles der Aktivität bei den einzelnen Organen deutliche Unterschiede. Bei den von uns untersuchten Organen findet sich nur in der Lunge ein leichter Abfall zu einem Zeitpunkt, wo in der Leber und Niere - wie andere Untersuchungen zeigten - der stärkste Abfall zu verzeichnen ist. Während bei Niere und Leber die Depression langdauernd ist, ist sie bei der Lunge nur sehr kurz. Bereits 12 Stunden nach der Vergiftung ist sie nicht mehr feststellbar. Ein noch kürzerer und im Ausmass eher noch kleinerer Abfall als in der Lunge findet sich im Herzen. Am Gehirn war überraschenderweise keine Minderung der Aktivität zu beobachten.

Ein Vergleich der enzymatischen Schädigung mit der Enzymaktivität im unvergifteten Tier zeigt, dass keine Korrelation zwischen Grösse der Normal-Aktivität und Stärke der Tetrachlorkohlenstoff-bedingten Minderung besteht.

Es ist nicht anzunehmen, dass die sehr unterschiedliche enzymatische Schädigung in den einzelnen Organen darauf zurückzuführen ist, dass Tetrachlorkohlenstoff nicht in alle Organe gelangt ist. Es kann allein auf Grund unserer Ergebnisse auch nicht der Schluss gezogen werden, dass in jenen Organen, nämlich Gehirn und zum Teil auch Herz, bei denen kein Abfall der Succinoxydase festzustellen war, keine Schädigung durch den Tetrachlorkohlenstoff abgelaufen ist. Es lässt sich nur sagen, dass die verschiedenen Organe eine unterschiedliche Veränderung der Succinoxydase bzw. Dehydrase als Tetrachlorkohlenstoff-Folge aufweisen. Der Grund für diese unterschiedliche Empfindlichkeit dieses Enzyms gegenüber Tetrachlorkohlenstoff in den verschiedenen Organen liegt nicht in der verschiedenen Aktivität dieses Enzyms, sondern dürfte vermutlich eher in dem unterschiedlichen Strukturstoffwechsel der einzelnen Organe zu suchen sein.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wurde das Verhalten der Succinoxydase in Lunge, Herz und Gehirn von Ratten nach Tetrachlorkohlenstoff-Vergiftung bestimmt. Dabei wurde beobachtet:

1. Im Lungengewebe ist in der Zeit 6 - 10 Stunden nach der Vergiftung ein Abfall des Sauerstoffverbrauches festzustellen. Diese Verminderung ist 24 Stunden nach der Vergiftung und später nicht mehr nachzuweisen.
2. Die Aktivität bzw. der O_2 -Verbrauch von Herzgewebe ist etwa 20 mal grösser als in der Lunge.
3. Am Herzgewebe tritt 12 Stunden nach der Vergiftung ein Abfall im O_2 -Verbrauch ein. Diese Verminderung ist 24 Stunden nach der Vergiftung nicht mehr nachzuweisen.
4. Im Gehirngewebe ist auch bei hoher Dosierung eine Minderung des O_2 -Verbrauches nicht eingetreten.
5. Bei der subcutanen Verabreichung von Tetrachlorkohlenstoff tritt keine stärkere Hemmung der Succinoxydase als bei der intraperitonealen ein.

Dem Direktor der Medizinischen Poliklinik
Herrn Professor Dr. med. W. SEITZ, danke
ich für die Möglichkeit, den experimentel-
len Teil dieser Arbeit in seiner Klinik durch-
führen zu dürfen.

Herrn Privatdozent Dr. med. N. ZÖLLNER
möchte ich meinen aufrichtigen Dank für die
Überlassung der Arbeit und für die Übernah-
me des Referates aussprechen.

Besonderer Dank gebührt Herrn Dr. med.
E. KÖNIG für die wertvolle Unterstützung
und Beratung während meiner Versuchsarbeit.

LITERATURANGABE

- 1) Aufdermaur, M., Muheim, E.:
Z. Unfallmed. u. Berufskrankheiten (Zürich) 46,
275-282 (1953)
- 2) Becker, F.:
Med. Diss. Univ. München (1954)
- 3) Björk, L.:
Upsala Läk. för Förh. 57, 185-191 (1952)
- 4) Friedberg, Ch.K.:
Amer. J. Med. 9, 164-174 (1950)
- 5) Gardner, G.H., Grove, R.C., Gustafson, R.K., Mauri, E.D., Thompson, M.J.,
Wells, H.C., Lamson, P.D.:
Bull. Johns Hopkins Hosp. 36, 107-133 (1925)
- 6) Himsworth, H.P.:
Cambridge, Mass. (1950)
- 7) Jacobs, A., Rosemann, R.:
Arch. f. Toxikologie 16, 233-236 (1957)
- 8) Jennings, R.B.:
Arch. of Path. 59, 269-284 (1955)
- 9) Johnson, J.B., Johnson, P., Eve, J., Keller, D., Batten, G., Wilkins, W.:
J. Labor. a. Clin. Med. 42, 380-388 (1953)
- 10) Kimpel, E.:
Med. Diss. Univ. München (1954)
- 11) Kirkpatrick, H.J.R., Sutherland, J.M.:
J. Clin. Path. 9, 242-247 (1956)
- 12) Lohmeyer, D.:
Med. Diss. Univ. München (1960)
- 13) Potter, V.R.:
Manometric Techniques Tissue Metabolism
- 14) Stühlinger, H.:
Zbl. Path. 83, 358-363 (1947)
- 15) Thompson, J.F., Moss, E.M.:
Cancer (Philadelphia) 8, 789-795 (1955)
- 16) Tsuboi, K.K., Stowell, R.E.:
Cancer Research 11, 3 (1951)
- 17) Umiker, W., Pearce, J.: Arch. of Path. 55, 203-217 (1953)
- 18) Zöllner, N., Gölkel, A.: Unveröffentl. Versuche
- 19) Zöllner, N., Groebel, H.: Hoppe-Seyler's Ztschr. f. phys. Chem. Bd. 290
(1952)

20) Zöllner, N., Raisich, E. Ztschr. f. d. ges. experim. Med. 128, 140-147
(1956)

21) Zöllner, N., Rothmund, E.;
Hoppe-Seyler's Ztschr. f. physiol. Chem. Bd. 298
(1954)

LEBENS LAUF

Am 16. August 1933 wurde ich in Göttingen als ältestes Kind des Studienrates Dr. Heinrich Warnebold und seiner Ehefrau Margarete, geborene Becherer, geboren. Dort besuchte ich von Ostern 1940 bis Ostern 1943 die Albani-Volksschule und von Ostern 1943 an die Oberschule für Mädchen (jetzt: Gymnasium für Mädchen), die ich Ostern 1952 mit dem Zeugnis der Reife verliess. Im Anschluss daran studierte ich an der Universität Göttingen 2 Semester Biologie und wechselte Ostern 1953 zur Medizin über. Im März 1956 bestand ich das Physikum in Göttingen, studierte dann im Sommersemester 1956 in Heidelberg. Im Anschluss an dieses Semester arbeitete ich 2 Monate bei Herrn Privatdozent Dr. Notdurft, Heidelberg, auf dem Gebiete der Krebsforschung. Im Wintersemester 1956/57 setzte ich mein Medizinstudium an der Universität München fort und legte nach dem Sommersemester 1959 hier das Medizinische Staatsexamen ab (beendet am 1.8.1959).

